Aus den seminaristischen Uebungen für pathologische Physiologie
an der Universität Berlin
(Leiter: Prof. Dr. Adolf Bickel)

Kann Cholinschwund im lagernden Mehl die Ursache für die Aenderung seiner Wirkung auf den Leberglykogengehalt sein?

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des
Medizinischen Doktorgrades
an der
Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Berlin

vorgelegt von

Dimiter Stojanoff
aus Pleven (Bulgarien)

Tag der Promotion: 27. 10. 1941

Druck: Karl u. Richard Hoffmann, Charlottenburg, Schillerstr. 44.

M 274

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Kreuz

Referent: Prof. Dr. Bickel

Korreferent: Prof. Dr. Lohmann

Kann Cholinschwund im lagernden Mehl die Ursache für die Aenderung seiner Wirkung auf den Leberglykogengehalt sein?

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153504_0155

Im Jahre 1939 hat Bickel (1) über die ernährungsphysiologische Wirkung des frisch ausgemahlenen und des gelagerten Roggenvollkornmehls in Bezug auf den Glykogengehalt der Leber Beobachtungen mitgeteilt, aus denen sich ergab, daß bei Ratten der Leberglykogengehalt höher ist, wenn ceteris paribus in einer definierten Diät, in der das Nahrungseiweiß ganz und das Kohlehydrat in überwiegender Menge vom Vollkornroggenmehl gebildet wird, frisch ausgemahlenes Vollkornroggenmehl vorhanden ist, als dann, wenn Roggenvollkornmehl der gleichen Herkunft benützt wird, das längere Zeit (etwa 2—3 Monate) unter allen Kautelen gelagert worden ist. Daß bei den zu vergleichenden Diäten für reichliche Vitaminversorgung der Versuchstiere gesorgt war, versteht sich von selbst.

Der nächstliegende Gedanke zur Erklärung der beobachteten Erscheinung war, anzunehmen, daß bei dem Mehl gerade aus der Randschicht des Getreidekorns stammende Teile beim Lagern einer Umsetzung bzw. Zersetzung anheimfielen und daß die Auswirkung dieser chemischen Aenderungen die Aenderung im Leberglykogengehalt sei. Enthält doch die Randschicht des Getreidekornes gerade die Hauptmasse der das Eiweiß und Kohlehydrat im Getreidekorn begleitenden anderweitigen Substanzen. Es war bekannt, daß solche Umsetzungen in der Tat auftreten, z. B. am Fett, wie es schon das Ranzigwerden des lagernden Mehls, vor allem des Vollkornmehls bewies. Man wußte ferner von chemischen Veränderungen am Kohlehydrat solchen Mehles, indem die Stärke zum Teil in Disacchariде abgebaut wird. Es war ferner bekannt, daß im lagernden Mehl eine Verwandlung organisch gebundenen Phosphors in anorganisches Phosphat möglich ist, wobei Phytine gespalten werden, an denen demnach das lagernde Mehl verarmt (Kühl 2)). Daß bei dem beobachteten Phänomen eine Vitaminverarmung, die beim Lagern möglich ist, keine Rolle spielen kann, geht aus meinem obigen Hinweis auf die Diätzusammensetzung hervor.

Da weder Veränderungen am Eiweiß beim Lagern des Mehls bisher nachgewiesen wurden, noch auch der beobach-

tete Abbau der Stärke und des Fettes die Abnahme der zur Glykogenablagerung in der Leber führenden Eigenschaft des Mehls beim Lagern zu erklären vermochten und eine Aenderung im Mineralstoffgehalt des Mehls beim Lagern unmöglich war, so blieben, wie Bickel (l. c. 1) schreibt, eigentlich nur Wirkstoffe als verantwortliche Faktoren übrig, die außer den Mineralien und Vitaminen im Getreidekorn enthalten sind.

Wir haben nun gehört, daß beim Lagern des Mehls eine Verwandlung organisch gebundenen Phosphors in anorganisches Phosphat auftritt. Da lag der Gedanke nahe, daß die Ursache für das uns hier interessierende Phänomen in einer Veränderung solcher Wirkstoffe zu suchen ist, die Phosphor in organischer Bindung enthalten. Das gilt in erster Linie für das Lecithin, dessen eine wesentliche Komponente das Cholin und dessen andere die Glyzerinphosphorsäure ist. Bestärkt wurde man in dieser Vermutung durch eine Arbeit von Schroeter und Strassberger (3), die Cholin als Schadstoff in kranker Gerste beschrieben, und die annahmen, daß unter besonderen Umständen, vielleicht durch die Einwirkung von Mikroorganismen das Lecithin der Gerste zu Cholin abgebaut oder zu leicht hydrolysierbarem Cholinester umgeestert werden könnte. Diese Beobachtung zeigte jedenfalls, daß unter den Wirkstoffen im Mehl das Lecithin besonders leicht zersetzt wird. Da ist der Gedanke naheliegend, daß eine solche Zersetzung auch bei dem Spaltprodukt des Lecithins, dem Cholin, nicht Halt zu machen braucht, sondern daß im lagernden Mehl eine Cholinzersetzung Platz greifen könnte.

Zu diesen Ueberlegungen kam noch eine Beobachtung, die im hiesigen Laboratorium gemacht wurde und in einer noch nicht veröffentlichten Arbeit von Frau Manig beschrieben ist.

Es wurde bei korrespondierenden Diäten der Art, wie ich sie eingangs mitgeteilt habe, vergleichend der Glykogengehalt der Leber untersucht bei gelagertem und frisch

ausgemahlenem Mehl von den Ausmahlungsgraden 0—40 % und 40—100 %. Bei diesem Versuch zeigte sich überraschender Weise, daß das Lagern beim Mehl von 40—100 %iger Ausmahlung völlig ohne Einfluß auf die Beziehungen des Mehls zum Leberglykogengehalt war, während beim Mehl von 0—40 %iger Ausmahlung das gelagerte Mehl einen wesentlich geringeren Leberglykogengehalt bewirkte, als das frisch ausgemahlene Mehl dieses Ausmahlungsgrades. Aus den Schall'schen Tabellen (4) geht hervor, daß im Mittel der Lecethingehalt des Weizenmehls 65 mg, derjenige im Roggenmehl 57 mg in 100 g Mehl beträgt. Im Weizenmehl von 80—98,5 %iger Ausmahlung sind in 100 g Mehl dagegen 500 mg Lecithin enthalten. Man wird also annehmen dürfen, daß im Roggenmehl von einer entsprechenden Ausmahlung ein annähernd gleich hoher Lecithingehalt vorhanden ist. Jedenfalls geht aus diesen Beobachtungen hervor, daß bei der Ausmahlung des Mehls von 0—40 % weniger Lecithin im Mehl enthalten sein wird, als bei einer Ausmahlung von 40—100 %, daß also der Mehlkern an Lecithin arm, die Randschicht des Getreidekorns aber lecithinreich ist. Wenn nun beim Lagern des Mehls Lecithin und Cholin zersetzt werden, dann muß beim Mehl von 0—40 %iger Ausmahlung, wie auch beim Gesamtmehl von 0—100 %iger Ausmahlung, der Lecithin- bzw. Cholinverlust sich für die physiologische Wirkung des Mehls weit empfindlicher geltend machen, als beim Mehl von 40—100 %iger Ausmahlung. Denn bei diesem letzteren Mehl ist ja der Lecithin- und Cholinvorrat von Anfang an so groß, daß eine gewisse Menge schon zerstört sein kann, ohne daß die dem Lecithin zustehende physiologische Wirkung eine nachhaltige Beeinträchtigung zu erfahren braucht. So weist auch diese Beobachtung darauf hin, daß die hier zur Diskussion stehende Erscheinung mit einer Veränderung von Wirkstoffen, vorzüglich des Lecithins verknüpft sein könnte.

Ueber den Einfluß des Cholins auf den Glykogen- und Fettgehalt der Leber ist im wesentlichen nun folgendes bekannt.

Im Jahre 1930 teilte der Amerikaner Hershey (5) mit, daß die Fettanhäufung in der Leber des entpankreatisierten Hundes auch bei fettfreier Kost zustande kommt, aber durch Pankreas Verfütterung verhindert werden kann, und er fand, daß es sich dabei nicht um eine Wirkung der Pankreasenzyme, sondern um eine solche der im Pankreas enthaltenen Lecithine handelt. Best, Hershey und Huntsman (6) führten dann analoge Versuche mit weißen Ratten aus, bei denen man eine Fettansammlung in der Leber durch fettreiche Kost herbeigeführt hatte; Lecithinzusatz zu einer solchen Kost verhinderte die Fettansammlung in der Leber. In der Folge wiesen dann Best und Hershey mit ihren Mitarbeitern (7—11) nach, daß das Cholin wirkungslos ist bei der durch Phosphorvergiftung erzeugten Fettdegeneration der Leber. Cholinfreie Kost bewirkte nach diesen Autoren bei normalen Ratten eine Steigerung, cholinreiche Kost aber eine Verminderung des Leberfettgehalts bei Ratten unter Verwendung korrespondierender Diäten.

Im Jahre 1936 fanden die Italiener Cedrangolo und Conte Marotta (12) an Ratten, die mit fettreicher Kost gefüttert waren, wie bei Hunden, bei denen die Fettanreicherung der Leber durch Phlorrhizineinspritzungen erzielt worden war, daß bei Behandlung mit Cholin parallel mit der Senkung des Leberfettes eine starke Glykogenvermehrung auftrat. Im Jahre 1938 haben dann C. Ardy und G. Gallo (13) gefunden, daß in der in aseptischer Autolyse befindlichen Leber pankreasektomierter Hunde eine starke Vermehrung des Reduktionsvermögens auftritt, wenn man die Tiere mit Cholin vorbehandelt hat. Bei Kontrollversuchen ohne Vorbehandlung der pankreaslosen Tiere mit Cholin fehlte die Zunahme des Reduktionsvermögens bei der Autolyse vollständig. Mit der Vermehrung des Reduktionsvermögens schien aber kein Fettabbau einherzugehen.

Im Widerspruch zu diesen Beobachtungen steht eine Mitteilung des Japaners Kitamoto Osamu (14), der bei Kaninchen nach der parenteralen Zufuhr von 10 ccm 10%iger

Lecithinemulsion eine deutliche Leberglykogenabnahme gefunden hat.

Alle anderen bisher besprochenen Untersuchungen aber lassen das Cholin als einen lipotrophischen und glykogenotrophischen Faktor erkennen, indem es speziell regulatorische Wirkungen auf den Fett- und Glykogenstoffwechsel ausübt. Dazu ist über die lipotrophische Funktion des Cholins bekannt, daß sie sich nicht nur auf das Leberfett, sondern auch auf das gesamte Körperfett bezieht. Die Annahme liegt nahe, daß Entsprechendes auch für das Glykogen gilt.

Von Interesse ist der Hinweis in den Arbeiten von Best und seinen Mitarbeitern, daß auch mit Eiweißkörpern unterschiedliche lipotrophische Wirkungen verknüpft sein können, bei denen Cholin als Träger nicht in Frage kommt. Es steht hier nur zur Diskussion, ob es sich um besondere Begleitstoffe des Eiweißes handelt oder ob die Aminosäuren als solche derartige Wirkungen ausüben können, unmittelbar oder nach ihrem Umbau in besondere Stoffe. Vor allem wurde das Casein als Träger einer derartigen lipotrophischen Wirkung erkannt, die von derjenigen des Cholins kaum zu unterscheiden ist, während der Gelatine diese Eigenschaft völlig fehlt. Auch das mit Alkohol sorgfältig extrahierte Ochsenfleisch hat noch ähnliche lipotrophische Wirkungen, wenn auch in verringertem Maße.

In diesem Zusammenhang muß an die Beobachtungen von Bickel und seinen Schülern erinnert werden, daß nicht nur eine einzelne Aminosäure, die in geringer Menge zu einer eiweißfreien Diät gegeben, den Leberglykogengehalt regulatorisch beeinflussen kann, sondern, daß im gleichen Sinne auch die Menge und die Art des Nahrungseiweißes überhaupt wirken, indem es Eiweißarten gibt, die einen hohen, wie z. B. das Tuberin, und andere die einen niedrigen z. B. Casein, Leberglykogengehalt einregulieren. Daß es sich hierbei in allen Fällen um eine unmittelbare regulatorische Wirkung der Aminosäuren oder mit ihrer Hilfe aufgebauten spezifischen Substanzen handelt, hat

Huchtemann (15) in unserem Laboratorium nachgewiesen.

Wenn man nun daran dachte, daß bei den Mehlversuchen die Ursache für den verminderten Leberglykogengehalt bei Verfütterung des gelagerten Mehls, eine beim Lagern sich einstellende Cholinzersetzung sei, dann war es vor allen Dingen wünschenswert, zur Klärung dieser Frage festzustellen, wie sich denn ein derartig gelagertes Mehl nach einer Anreicherung mit Pflanzenlecithin auf den Leberglykogengehalt auswirkte, wenn man bei der Dosierung den normalen Lecithingehalt eines solchen Mehles als Richtschnur nahm.

Bei diesen Versuchen, die Gegenstand meiner vorliegenden Arbeit sind, benützte ich 0—40 %ig ausgemahlenes Roggenmehl. Es war das ein Teil desjenigen Roggenmehles, mit dem auch Frau Manig ihre früheren Versuche, die ich oben kurz erwähnte, gemacht hatte. Als Frau Manig ihre Versuche ausführte, hatte dieses Mehl $2^1/_2$ Monate gelagert, als ich meine Versuche damit machte, hatte es im ganzen $6^1/_2$ Monate gelagert. Bei einem Vergleich der Versuche von Frau Manig und meinen eigenen mit diesem Mehl ohne Cholinzusatz lag der Glykogengehalt der Lebern in derselben Größenordnung. Wenn man auch die absoluten Werte für das Glykogen bei Tierversuchen, die zu verschiedenen Zeiten durchgeführt wurden, nur mit Vorbehalt vergleichen kann, so zeigt doch im vorliegenden Fall der Vergleich bei der großen Aehnlichkeit der Analysenzahlen wenigstens mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit an, daß der Zersetzungsprozeß in dem Mehl, soweit er auf den Glykogengehalt der Leber Einfluß hatte, nach $2^1/_2$ Monaten dauernder Lagerung abgeschlossen war.

Meine Versuche mit der Cholinanreicherung dieses Mehls waren nun folgendermaßen angeordnet.

Es wurden 40 Ratten in vier Gruppen zu je 10 Tieren geteilt und jede Gruppe in einem Stoffwechselkäfig gehalten. Gruppe I und II bekamen das $6^1/_2$ Monate gelagerte Roggenmehl von 0—40 %iger Ausmahlung, Gruppe III und IV erhielten dasselbe Mehl unter Zusatz von 90 mg

pflanzlichen Lecithins auf 143 g Mehl. Das entspricht einem Lecithingehalt von 63 mg%. Es wurde bei dieser Dosierung der Lecithingehalt des Mehls, den wir mit 57 mg% für Roggenmehl der üblichen Ausmahlung angegeben hatten, im Interesse der Deutlichkeit des Versuchsausfalls ein klein wenig überschritten. Das Lecithin wurde in Lebertran der Diät gelöst und dem Nahrungsbrei, den die Tiere erhielten, gleichmäßig untermischt. Das bei dem Versuch verwandte Roggenmehl von 0—40 %iger Ausmahlung enthielt in einem Gramm 0,0131 g N. Die Tagesration der Diät hatte für 10 Ratten folgende Zusammensetzung:

Roggenmehl 0—40 %	143 g
Rübenzucker	20 g
Lebertran	10 ccm
Salzgemisch Mac Coloum 185	2 g
Sanostol	1 ccm
Wasser	600 ccm

Abgesehen von Lebertran und Sanostol, einem Lebertranpräparat mit den Vitaminfaktoren A, B, C und D, wurde aus den Nahrungsbestandteilen ein Brei gekocht, dem nach Erkalten die Fette als Vitaminträger untermischt wurden. Bei den Tieren, die das Lecithin erhielten, war dieses vorher im Lebertran gelöst worden. Die Fütterung der Tiere erfolgte 8 oder 9 Tage. Von der I. Gruppe war eine Ratte in der Nacht vom 3. zum 4. Versuchstag, aus unbekannter Ursache, gestorben, aber von den anderen Tieren unberührt gelassen worden, sodaß diese Gruppe nur 9 Tiere zählte. Das Körpergewicht der Tiere wurde fortlaufend kontrolliert, es nahmen die Tiere in allen Gruppen um einige wenige Gramm an Gewicht zu. Die Tagesration des Futters wurde immer fast quantitativ verzehrt, bei der Aenderung der Zahl der Versuchstiere in einer Gruppe wurde die tägliche Futterration in entsprechender Weise geändert. Es wurden immer die Lebern von je 5 Tieren einer Gruppe nur bei den ersten Gruppen in einem Fall die Leber von 4 Tieren der Gemeinschaftsanalyse auf Glyko-

gen zugeführt. 20 Stunden nach der letzten Futterbeschickung der Käfige wurde die Tötung der Tiere durch Genickschlag vorgenommen und zwar,

bei der I. und III. Gruppe nach 8-tägiger Fütterung,
bei der II. und IV. Gruppe nach 9-tägiger Fütterung,

Die Lebern wurden raschestens aus den Tierkörpern genommen, anhaftendes Blut abgetupft, unter Zerlegung durch ein paar Scherenschnitte in ein tariertes Kölbchen mit heißer Kalilauge geworfen und darin gewogen. Die Glykogenanalyse erfolgte nach „Pflüger-Boesl" (16), die Traubenzuckerbestimmung wurde nach „Hagedorn-Jensen" ausgeführt. In den folgenden Tabellen finden sich die mittleren Tiergewichte während der Fütterungszeit, die Gewichte der frischen Lebern und der Glykogentraubenzuckergehalt der Lebern verzeichnet:

	Käfig I	Käfig II	Käfig III	Käfig IV
12. VI. 1941	130 g	120 g	135 g	132 g
13. VI. 1941	130 g	120 g	135 g	132 g
14. VI. 1941	130 g	120 g	136 g	133 g
15. VI. 1941	132 g*)	121 g	137 g	134 g
16. VI. 1941	131 g	121 g	138 g	135 g
17. VI. 1941	131 g	121 g	138 g	134 g
18. VI. 1941	131 g	121 g	138 g	134 g
19. VI. 1941	131 g	121 g	138 g	134 g

*) von hier ab nur 9 Tiere.

	Gewichte der Lebern	Fütterungstage	Zahl der Ratten	% Glykogentraubenzucker
ohne Lecithinzusatz	37,0 g	8	4	3,549 %
	33,5 g	8	5	3,820 %
	33,4 g	9	5	4,170 %
	34,5 g	9	5	3,701 %
			Mittelwert:	3,810 %

	Gewichte der Lebern	Fütterungs-tage	Zahl der Ratten	% Glykogentrauben-zucker
	28,5 g	8	5	6,964 %
mit	24,2 g	8	5	6,716 %
Lecithinzusatz	35,9 g	9	5	6,350 %
	28,8 g	9	5	7,014 %
			Mittelwert:	6,761 %

Das Versuchsergebnis war eindeutig. Der prozentige Glykogentraubenzuckergehalt der frischen Lebern bei den Tieren ohne zusätzliche Lecithingabe lag bei 3,6—4,1 %, derjenige der Lebern der Tiere mit Lecithingabe bei 6,4—7,0 % im Mittel hatten die ohne Lecithingabe ernährten Tiere 3,81 % und die mit Lecithin ernährten Tiere 6,76 % Glykogentraubenzucker, es hatten also die Lecithintiere 77,4 % Glykogentraubenzucker mehr als die ohne Lecithin. Bei dem Mehl, genau der gleichen Herkunft, wie es bei meinem Versuch verwandt wurde, hatte bei dem Versuch von Frau Manig dieses frisch ausgemahlene 0—40 %ige Mehl im Mittel einen Glykogentraubenzuckergehalt der Leber von 5,305 % bewirkt, während das abgelagerte Mehl einen solchen von 3,9 % gemacht hatte. Bei meinem Versuch hatte ich bei dem Mehl ohne Lecithinzusatz fast genau denselben Glykogentraubenzuckergehalt, nämlich 3,81 % erhalten, den Frau Manig bei ihren Versuchen mit dem abgelagerten Mehl bekommen hatte. Während aber Frau Manig mit dem frisch ausgemahlenen Mehl 5,305 % Glykogentraubenzuckergehalt gefunden hatte, habe ich bei dem gelagerten Mehl mit Lecithinzusatz 6,761 % erhalten. Bei dem Versuch von Frau Manig bewirkte das frisch ausgemahlene Mehl ca. 37,7 % Glykogentraubenzucker mehr als das abgelagerte Mehl, in meinem Versuch betrug der Unterschied zwischen der Wirkung eben dieses abgelagerten Mehls und des gleichen Mehls mit Lecithinzusatz zugunsten des letzteren 77,4 %. Der größere Unterschied bei mir könnte wohl auf die geringe Ueberdosierung mit Lecithin bezogen werden, die ich bei meinem Versuch im Interesse der Eindeutigkeit des Versuchsergebnisses vorgenommen hatte.

Aufgabe des Nahrungsmittelchemikers würde es nun sein, analytisch genau das Verhalten des Lecithins im lagernden Mehl zu verfolgen. Denn erst dann, wenn eine Abnahme des Lecithin- und Cholingehaltes in lagernden Mehl analytisch wird festgestellt sein, wird man mit Sicherheit sagen können, ob die Aenderungen im Leberglykogengehalt bei der Wirkung des abgelagerten Mehls im Vergleich zum frischen Mehl die Ursache dieser Erscheinung ist.

Literaturangabe.

1. Bickel, A., Biochemische Zeitschrift *302*, 198, 1939.
2. Kühl, Das Mühlenlaboratorium *3*, 39, 1933.
3. Schroeter u. Straßberger,: Biochemische Zeitschrift *232*, 452, 1931.
4. Schall, Nahrungsmitteltabellen. Verlag Kabitzsch, Leipzig 1935.
5. Hershey, American Journal of Physiol. *93*, 657, 1930.
6. Best, Hershey, Huntsman, Journal of Physiol. *75*, 56, 1932.
7. Best, Ferguson, Hershey, Journal of Physiol. *79*, 94, 1933.
8. Best, Channon, Ridout, Journal of Physiol. *81*, 409, 1934.
9. Best, Huntsman, Journal of Physiol. *83*, 255, 1935.
10. Best, Maclean, Ridout, Journal of Physiol. *83*, 275, 1935.
11. Best, Mawson, Journal of Physiol. *86*, 315, 1936.
12. Cedrangolo u. Conte Marotta, Arch. di Sc. Biol. *22*, 569, 1936.
    Boll. Soc. It. Biol. Sperim. *12*, 12, 1937
13. Ardy, C. u. G. Gallo, Biochemische Zeitschrift *295*, 252, 1938.
14. Kitamoto Osamu, Mitt. med. Ges. Tokyo, *53*, 1—13. 1939.
    cit. in Ber. über d. ges. Physiol. *111*, 1939.
15. Huchtemann, Biochemische Zeitschr. *308*, 40, 1941.
16. Pflüger-Boesl, Biochem. Zeitschrift, *202*, 299, 1928.

Lebenslauf

Ich, Dimiter Stojanoff, bin am 12. Februar 1917 in Pleven Bulgarien geboren. Am 24. Mai 1935 habe ich das Volks-Gymnasium in derselben Stadt absolviert. Mein medizinisches Studium verbrachte ich an der Universität in Berlin und habe es am 3. September 1941 mit dem Staatsexamen abgeschlossen.